dOL Dor on line

ISSN 2446-6670

Edição de Janeiro de 2015
Ano 15 - Número 174

Ficha Catalográfica

DOL - Revista Dor Online/Universidade de Brasília - Faculdade de Ceilândia. − v. 1, n. 6 (Dezembro/Janeiro 2015) -

Mensal
Publicação online: <http://www.dol.inf.br/Index.html>
ISSN 2446-6670

1. Ciências da Saúde; 2 - Dor.

DOL – Dor OnLine

EDIÇÃO 174

Chamada da Edição

Caros leitores, iniciando o ano de 2015 o boletim Dor On Line traz a vocês o primeiro de uma série de editoriais tendo como tema as toxinas e o estudo da dor. Ainda, e complementando nossa edição anterior, trazemos resumos apresentados em congressos no ano de 2014, mostrando aqui alertas sobre alguns trabalhos discutidos em formato de pôster no 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental, promovido pela SBFTE, Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental, em Fortaleza - CE, de 21 a 24 de outubro de 2014. Boa Leitura!

EDITORIAL

Toxinas: de veneno a medicamento.

Cássia Regina da Silva *

No final da década de 70, estudos com ω-conotoxinas obtidas do veneno de caramujos marinhos resultaram na descoberta da ω-conotoxina MVIIA, cuja versão sintética é a ziconotida (Prialt®). Após décadas de pesquisa a ziconotida foi aprovada para o uso em pacientes com dor crônica refratária a outros tratamentos. A ziconotida tornou-se assim a primeira toxina peptídica extraída de veneno animal em uso na clínica para o tratamento da dor, sendo que sua descoberta impulsionou a pesquisa básica e clínica de novos tratamentos para a dor a partir de toxinas presentes no veneno de animais.

Toxinas do veneno de aranha: alívio da dor

O veneno de aranhas, composto por uma mistura complexa de substâncias biologicamente ativas utilizado para paralisar e capturar as suas presas, por outro lado, representa ainda um arsenal farmacológico bastante interessante para o desenvolvimento de novos fármacos, daí o crescente interesse da academia e da indústria farmacêutica no veneno dessas preciosidades científicas.

Dentre os diversos gêneros e espécies, a aranha *Phoneutria nigriventer*, que é popularmente chamada de aranha armadeira, integra o grupo das espécies de aranhas consideradas perigosas. A aranha armadeira é assim chamada devido a sua atitude de se “armar para o bote” quando se sente ameaçada. Ela encolhe as patas traseiras elevando seu corpo em posição quase vertical, erguendo as patas dianteiras e lançando deste modo suas presas de veneno. Elas são encontradas no continente sul-americano e se caracterizam como seres solitários, que não toleram nem mesmo a presença de companheiras da mesma espécie, noturnas, não constroem teias e vivem escondidas entre entulhos e lugares escuros e seu sucesso como predadoras se dá pela potência do seu veneno. São altamente agressivas e peçonhentas, e quando incomodadas, picam diversas vezes, e são responsáveis por aproximadamente 42% dos casos de picadas por aracnídeos notificadas no Brasil. O poder tóxico do seu veneno, por sua vez, é devido as toxinas que o compõem, que podem ser dividas em 4 frações: PhTx1, PhTx2, PhTx3 e PhTx4. Algumas destas toxinas são capazes de interagir com vias específicas de controle da dor, constituindo deste modo, uma fonte de ferramentas farmacológicas e de fármacos com potencial para o uso clínico.

Diferentes estudos pré-clínicos realizados por pesquisadores, sendo a maioria deles brasileiros, demonstram que uma destas toxinas, originalmente chamada de Tx3-6 e hoje conhecida como Phα1β, é tão eficaz quanto à ziconotida e a morfina em causar analgesia. Os estudos demonstram que a administração da Phα1β reduziu em 100% a dor relacionada ao câncer em camundongos, sem tornar o animal tolerante ao medicamento, diferente da morfina que com o tempo tem que ser tomada em maiores doses para continuar a produzir os mesmos efeitos. Além da dor relacionada ao câncer, existe a dor relacionada ao uso de quimioterápicos. Da mesma forma, a toxina Phα1β reduziu a dor devido ao uso de quimioterápicos. Adicionalmente, o uso de Phα1β diminuiu a dor pós-cirúrgica em camundongos. Estes estudos foram realizados sempre comparando os efeitos da toxina com a ziconotida e/ou morfina e em todos eles foi demonstrado que com a toxina havia uma redução dos efeitos colaterais como ataxia (incapacidade de coordenação dos movimentos musculares voluntários), sonolência e tremores no corpo, o que afeta diretamente a qualidade de vida das pessoas. Além disso, o tempo de ação das toxinas do veneno é mais longo se comparado a ziconotida e a morfina.

Também, em relação à morfina, os estudos demonstraram ainda que a Phα1β aumentou o efeito analgésico da morfina, reduziu o desenvolvimento de tolerância a este medicamento e diminui os efeitos colaterais da morfina, como a constipação. Desta forma, estes estudos sugerem que a toxina poderia ser um bom coadjuvante na terapia com a morfina.

Outra toxina da aranha armadeira, a Tx3-3, causou analgesia em camundongos com neuropatia diabética, neuropatia devido a lesão do nervo ciático e neuropatia de origem inflamatória, e novamente, sem levar a ocorrência de

efeitos colaterais observados no tratamento com a ω-conotoxina MVIIC.

Para o acesso a medicamentos originados destes estudos há um caminho a ser trilhado, que inclui o desenvolvimento de uma forma sintética destas toxinas para permitir a produção em maior escala, e aí sim, será possível iniciar outra fase de testes e o processo que pode resultar na disponibilidade do medicamento para os pacientes. Contudo, as toxinas da aranha armadeira se mostram como ferramentas farmacológicas muito promissoras para o alívio da dor, inclusive em casos de tolerância a morfina, comprovando seu potencial para o uso clínico.

Referências:

- Rosa F., et al., Anesth Analg. 2014 Jul;119(1):196-202;
- Tonello R., et al., J Pain. 2014 Jun;15(6):619-31;
- Rigo FK., et al., Pharmacol Biochem Behav. 2013 Dec;114-115:16-22 e Cancer Sci. 2013 Sep;104(9):1226-30;
- de Souza AH., et al., Toxicon. 2011 Dec 1;58(8):626-33;
- Dalmolin GD., et al., Pain. 2011 Oct;152(10):2224-32.

---

* Doutora em Bioquímica Toxicológica pela UFMS-RS, Pós-doutoranda do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP

Resumos apresentados no 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental

Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014

1. O bloqueio do receptor de potencial transitório A1 reduz a hiperalgesia em um modelo de neuralgia do trigêmeo.

A neuralgia do trigêmeo (NT) causa dor de difícil tratamento e reduz a qualidade de vida dos pacientes. A desfuncionalização de fibras sensoriais positivas para os Receptores de Potencial Transitório Vanilóide 1 (TRPV1) e ankirina (TRPA1) realizada pela capsaicina (um agonista TRPV1) promove o alívio da dor durante a NT. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o papel do receptor TRPA1 em um modelo de NT em camundongos. Camundongos C57BL/6 selvagens ou com deleção gênica dos receptores TRPA1 (TRPA1-/-) foram submetidos a constrição do nervo infraorbital (CION) ou a falsa cirurgia (sham). Dez dias após o procedimento os animais foram tratados por via sistêmica ou subcutânea com o antagonista seletivo TRPA1 HC030031 (300 mg/kg ou 10µg/sítio), com o composto antioxidante acido α-lipóico (100 mg/kg ou 10 µg/sítio), ou com o inibidor da NADPH oxidase apocinina (100 mg/kg ou 1 µg/sítio). A nocicepção orofacial foi mensurada com o auxílio de

filamentos de von Frey (alodinia mecânica), aplicação de acetona (alodinia ao frio), e comportamento nociceptivo não evocado (movimentos espontâneos das patas dianteiras do animal em direção a face). A hiperalgesia química foi observada pela injeção local de diferentes agonistas TRPA1 (subcutâneo entre o focinho e a boca do animal). Adicionalmente, foi avaliada a imunorreatividade do TRPA1, as atividades das enzimas NADPH oxidase e superóxido, e a produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2, agonista TRPA1). O antagonista TRPA1 (HC030031), assim como a deleção genica do receptor, reduziu a alodinia mecânica e ao frio, e as respostas nociceptivas espontâneas (10 dias após a CION). Ainda, a injeção local de agonistas TRPA1 levou a uma piora na nocicepção em animais submetidos ao CION. A expressão dos receptores TRPA1 não foi alterada nos gânglios trigeminais dos animais com a CION, porém a CION levou a um aumento da atividade da NADPH oxidase e da superoxido dismutase, assim como nos níveis de H_2O_2 nos gânglios trigeminais. Por último, a administração sistêmica e local do agente antioxidante (ácido lipóico) e do inibidor da NADPH oxidase (apocinina) reduziram a nocicepção induzida pela CION. Estes resultados em conjunto demonstram que a ativação do receptor TRPA1 por substancias oxidativas talvez seja relevante para o desenvolvimento de nocicepção no modelo de TN. Assim, o bloqueio do TRPA1 poderia ser uma alternativa para o tratamento da dor da TN.

Referências:

Trevisan G, Nassini R, Di Siena G, Materazzi S, Fusi C, Rossato MF, Ferreira J, Geppetti P (05.019). 46º Congresso

Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

2. Avaliação da eficácia terapêutica do extrato de óleo de peixe no tratamento da dor neuropática.

A dor neuropática é uma condição multifatorial resultante de uma lesão ou mau funcionamento do sistema nervoso periférico ou central. A neuroinflamação inicialmente estabelecida na dor neuropática induzida por injúria do nervo periférico é um processo crucial para sua fisiopatologia. Interação neuroimune impulsiona o processo de sensibilização periférica e central, fenômeno essencial na dor neuropática.

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 como o ácido eicosapentanoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) são bem conhecidos pela sua atividade anti-inflamatória exibido por sua conversão endógena em mediadores lipídicos, como resolvinas e protectinas.

O trabalho teve como objetivo avaliar o extrato de óleo de peixe (FOE), rico em EPA e DHA, no tratamento da dor neuropática induzida por ligadura parcial do nervo isquiático em camundongos Swiss. Eles foram anestesiados e submetidos à cirurgia de ligadura do nervo. Antes da cirurgia, os animais receberam um estímulo térmico (Hargreaves) ou mecânico (Von Frey) na pata traseira

esquerda. O tratamento oral diário foi iniciado no 5º dia após a cirurgia com o veículo (goma arábica 5%) ou extrato de óleo de peixe - FOE (4,65 g/kg), durante 5 dias. A hipernocicepção térmica e a alodinia mecânica foram avaliadas 1, 2, 3, 4, 6 e 24 horas após a primeira administração e também no 5º, 7º e 9º dia após a cirurgia. As expressões de COX-2 e ATF-3 no gânglio da raiz dorsal (DRG) foram quantificadas por análise de *Western blot*. Além disso, também foi avaliada a produção de TNF-α no corno dorsal da medula espinal.

O FOE reverteu a alodinia mecânica no primeiro dia de tratamento 6 e 24h após a administração oral (n=6 animais, * $p<0,05$). No entanto, na hipernocicepção térmica, o tratamento com FOE foi eficaz somente 2 dias após a sua administração. A expressão da COX-2 e ATF-3 diminuiu no DRG de animais tratados com FOE durante 5 dias, indicando redução da inflamação e da ativação neuronal. Do mesmo modo, diminuiu a produção de TNF-α no corno dorsal da medula espinal, sugerindo ativação microglial reduzida. Conclusão: Os resultados indicam que FOE reduz a neuroinflamação e a ativação neuronal no modelo de dor neuropática induzida por lesão do nervo periférico em camundongos. Tratamento oral com FOE reverte a hipersensibilidade mecânica e térmica. Além disso, FOE surge como uma alternativa terapêutica segura e eficaz para o tratamento de dor neuropática.

Referência:

Silva RV, Lima CKF, Moreira CC, Santos EAP, Lobo BW, Miranda ALP FF-UFRJ – Fármacos e Medicamentos (05.040).

46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

3. Ativação supraespinal da via das quinureninas contribui para a manutenção da dor neuropática.

Um fator que pode contribuir para o desenvolvimento da dor neuropática é a modulação negativa da via descendente da dor pelo aumento da degradação do triptofano (Trp) ou mesmo da serotonina pela ativação da enzima indoleamina 2,3-dioxigenase 1 (IDO1). O objetivo do trabalho foi avaliar a participação das enzimas IDO e quinurenina 3 monoxigenase (KMO) presentes na substância cinzenta periaquedutal (PAG) e na medula rostral ventromedial (RVM) no desenvolvimento da dor neuropática em camundongos induzida (*Spared nerve injury*, SNI). O aumento da expressão de IDO1, KMO, da subunidade fosfo-NR1 e NR1 total do receptor NMDA foi realizada pela técnica de *Western blotting*. A administração de drogas foi realizada por via oral e intracerebroventricular (i.c.v.).

Foi observado o aumento da expressão da enzima IDO1 no RVM (7 dias) e PAG (3, 7, 14 e 21 dias) após SNI. O tratamento sistêmico com 1-Mt ou a microinjeção de Norharmane no espaço i.c.v. reduziram a hipersensibilidade mecânica no 7, 14 e 21 dias após SNI respectivamente. Corroborando com esses achados, animais deficientes para a enzima IDO1 (IDO-/-) submetidos a SNI não desenvolvem a

hipersensibilidade mecânica. Além disso, a expressão da enzima KMO aumenta significativamente no 7º e 14º dias no RVM e em 7 dias na PAG após SNI. Por conseguinte, a administração oral de JM6, pró-droga de liberação lenta do Ro61-8048, ou Ro61-8048 (inibidor da KMO) no espaço i.c.v. reduziu significativamente a hipersensibilidade mecânica nos dias 7, 14 ou 21 após SNI. Sabendo que a expressão da enzima IDO1 é modulada pela citocina IFN-γ, verificou-se que os animais deficientes para a citocina e o receptor de IFN-γ apresentam hipersensibilidade mecânica reduzida. Ainda, os animais IFN-γ-/- possuem expressão reduzida da IDO1 no RVM 7 dias após a SNI. Em adição, a microinjeção de doses crescentes de IFN-γ no espaço i.c.v. induz uma hipernocicepção mecânica em animais normais. Animais Rag-/- e CD4+/MHC2-/-, mas não os animais CD8+ apresentam reduzida expressão da enzima IDO1 no RVM e na PAG e consequentemente hipersensibilidade mecânica reduzida após SNI. Finalmente, a microinjeção dos metabolitos da IDO e KMO, no espaço i.c.v. de camundongos normais reduziram significativamente o limiar mecânico dos animais, sendo o QUIN o mais potente.

Ativação da via das quinureninas, então, pode ser dependente da ativação do receptor NMDA, visto que o pré-tratamento local com o MK801 (antagonista seletivos dos receptores NMDA) reverte os efeitos nociceptivos induzidos pelos metabólitos. Verificou-se ainda que a fosforilação da subunidade NR1 do receptor NMDA na PAG e no RVM no 14º e 21º dia após o SNI foi reduzida pela microinjeção no espaço i.c.v. de MK801 a qual reduziu a hipersensibilidade mecânica após SNI.

Sugere-se que as enzimas IDO e KMO, localizadas em regiões supraespinhais desempenham um importante papel no desenvolvimento da dor neuropática. Além disso, a expressão da IDO é dependente da sinalização via citocina

IFN-γ e células CD4+/MHC2 KO. Por último, o aumento da expressão dessas enzimas induz uma sensibilização central ao fosforilar subunidades do receptor NMDA e que o QUIN é o principal metabolito da IDO e KMO que medeia a hipernocepção neuropática.

Referência:

SANTANA, D.A.R.; SANTANNA, M. B.; FONSECA, M. D. M.; CUNHA F.Q.1; SOUZA, G.R.; CUNHA, T.M. (05.021). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

4. Ativação da aldeído-desidrogenase 2 reduz a dor neuropática e adutos de 4-hidroxinoneal.

O controle da dor neuropática continua a ser um desafio e uma necessidade clínica não atendida. A aldeído-desidrogenase 2 (ALDH2) é uma enzima mitocondrial responsável pelo metabolismo de aldeídos reativos. O acúmulo de aldeídos foi recentemente relacionado ao aumento da dor. Dados recentes demonstraram que a ativação de ALDH2, usando uma pequena molécula chamada Alda-1, exibe um efeito antinociceptivo potente no modelo de hiperalgesia induzida por carragenina (intraplantar, i.pl) em ratos. A ativação ALDH2 induz analgesia através da redução da carga aldeídicas. No entanto, o papel da ALDH2 no controle da dor neuropática é ainda desconhecido. Por isso, o estudo verificou o envolvimento do aldeído-desidrogenase mitocondrial 2, ALDH2, na dor neuropática, usando Alda-1, um agonista farmacológico ALDH2 que aumenta seletivamente a atividade de ALDH2. A dor neuropática foi induzida por lesão do nervo isquiático por constrição crônica (CCI) em camundongos. O limiar nociceptivo foi determinada, antes e 14 dias após a cirurgia, utilizando o método de von Frey eletrônico. Após a avaliação de comportamento, amostras de medula espinal foram obtidas para a detecção de 4-hidroxinonenal (4-HNE), adutos aldeídicos, por western blot.

Quatorze dias depois da cirurgia, foi realizada uma curva de dose-resposta para Alda-1 (5, 10 e 20 mg / kg, via sc) e o limiar de dor foi avaliado. A CCI diminuiu o limiar de dor quando comparados com os valores obtidos no pré-operatório (3,3 ± 0,3 g vs 9,7 ± 0,5 g). Alda-1 (5 mg/kg) aumentou o limiar de dor 1 e 2 horas após a sua administração, quando comparados com os camundongos tratados com veículo (6,7 ± 0,4 g e 7,7 ± 0,3 g, vs 4 ± 0,6 g e 3,4 ± 0,6 g, respectivamente). Alda-1 (10 e 20 mg/kg) também aumentou o limiar da dor comparado com os camundongos tratados com veículo em 1h (8,6 ± 0,8 g e de 8,9 ± 0,5 g, respectivamente, vs 4 ± 0,6 g) e a 2 horas (8,1 ± 1g e 9,3 ± 0,6 g, respectivamente, vs 3,4 ± 0,6 g). Não houve diferença no limiar de dor 3 h após a injeção de Alda-1 ou veículo controle em todas as doses avaliadas de Alda-1. A CCI induziu um aumento dos níveis de 4-HNE na espinal medula ipsilateral (4 vezes). Alda-1 (10 mg/kg) reduziu significativamente os níveis destes adutos.

Os resultados indicam que a ativação de ALDH2 por Alda-1 reduz a nocicepção induzida pela CCI através da diminuição da carga aldeídica na medula espinhal. A dose de 10 mg/kg proporcionou uma redução máxima da nocicepção nas últimas 2h. Os dados propõem um novo alvo mitocondrial para o controle da dor neuropática. Portanto, Alda-1 pode ser uma nova classe terapêutica de medicamentos para reduzir a dor neuropática.

Referência:

Netto BS, Ferreira JC, Chen CH, Mochly-Rosen D, Cury Y, Zambelli VO. (05-037). 46º Congresso Brasileiro de

Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

5. O envolvimento do sistema opioidérgico na analgesia induzida por enriquecimento ambiental.

A dor crônica é um sério problema de saúde pública, uma vez que vários tipos de dor continuam sendo intratáveis. Foi encontrado que o enriquecimento ambiental (EA) pode alterar a percepção do estímulo nociceptivo tanto quanto a resposta analgésica induzida por opioides, sugerindo uma relação entre bem estar e analgesia. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do bem-estar animal na ansiedade e na sensitividade de ratos em relação a um estímulo nocivo crônico e a resposta às drogas opioides. Foram utilizados ratos machos, separados nas seguintes condições: um grupo foi colocado em um ambiente enriquecido com objetos diferentes (bolinhas de pingue-pongue, túneis, esconderijos e outros objetos) a cada semana de modo regular, desde o nascimento. Já o grupo controle permaneceu em caixas padrão, não recebendo objetos. Após 7 semanas nestas condições, os efeitos do EA foram analisados na ansiedade, por meio do teste de labirinto em cruz elevada, assim como na sensibilidade mecânica induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático (CCI).

Foi relatado que o enriquecimento ambiental reduziu o comportamento do tipo ansioso dos animais, com maior número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos, quando comparados à ausência de enriquecimento.

Com relação à sensibilidade mecânica, foi detectada a hipernocicepção nos animais controle, enquanto aqueles submetidos ao ambiente enriquecido não apresentaram alteração no limiar de sensibilidade mecânica. Além disso, quando os animais foram tratados com naloxona, um antagonista opioide não seletivo, o efeito analgésico do AE foi completamente abolido. O tratamento com dose subanalgésica de morfina em ratos lesionados proporcionou aumento no limiar mecânico nos ratos do grupo EA, não apresentando efeito algum nos animais controles. Os resultados encontrados mostram que o uso do enriquecimento ambiental é efetivo na redução da ansiedade de animais experimentais, como já descrito na literatura. Animais expostos ao enriquecimento ambiental apresentaram menor sensibilidade à dor, a qual envolve a ativação da via opioidergica endógena, quando comparados aos animais controles. Assim, é possível inferir que os dados deste estudo ressaltam a importância do enriquecimento ambiental tanto no sistema límbico e analgésico, demonstrando pela primeira vez a modulação do sistema opioidérgico pelo enriquecimento ambiental em condições crônicas.

Referência:

Kimura LF, Mattaraia VGM , Picolo G (05.007). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

6. NOD1 E NOD2 contribuem para a gênese da dor neuropática e estão envolvidos na ativação de células gliais.

Dentre os receptores de reconhecimento padrão (PRRs), os receptores Toll-like e NOD-like (NLRs) são os mais importantes no reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). O NOD2 é responsável pela detecção intracelular do muramil dipeptídeo (MDP), PAMP encontrado em peptideoglicanos de bactérias. Após o reconhecimento, NLRs recrutam diretamente RIPK2, uma proteína adaptadora, importante na ativação de NF-kB mediada por NLRs. Os PRRs apresentam um papel crucial na ativação de células gliais da medula espinal e na indução e manutenção da dor neuropática.

Nesse trabalho foi demonstrado que os animais deficientes para NOD1, NOD2 e RIPK2 apresentaram redução significativa da hipernocicepção mecânica após indução de neuropatia periférica (*Spared nerve injury*, SNI). Já a hipernocicepção inflamatória induzida por CFA não foi reduzida nesses animais. A redução da dor neuropática em NOD1-/-, NOD2-/- e RIPK2-/- foi associada a uma diminuição da expressão de Iba-1, GFAP, IL-1β e TNF-α na medula espinal quando comparado ao grupo WT. Camundongos WT tratados com uma injeção intratecal de MDP (NOD2 ligante),

mas não com I-DAP (NOD1 ligante), apresentaram uma diminuição no limiar nociceptivo mecânico comparado com o grupo controle. Além disso, in vitro, foi observado que culturas primárias de microglia não induziram liberação de IL-1β, TNF-α, IL-6 em resposta ao MDP (10µg/ml). No entanto, quando administrado juntamente com uma concentração ineficaz de LPS (0,1ng/ml), apresentou uma forte produção destas citocinas.

A somatória dos resultados sugerem que NOD1 e NOD2, via RIPK2, contribuem para a gênese da dor neuropática, possivelmente mediando a liberação de citocinas pró-nociceptivas e a ativação de células gliais. Além disso, os resultados apontam a ação sinérgica de NOD2 com TLR4 no intuito de estimular a ativação glial. Estes mecanismos representam uma nova abordagem para elucidar os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da dor crônica e um possível alvo para o desenvolvimento de drogas para o tratamento da dor neuropática.

Referência:

Santa-Cecília FV, Ferreira DW, Fonseca MD, Cunha FQ, Zamboni DS, Cunha TM-FMRP-USP (05-025). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

7. Polissacarídeo sulfatado derivado de algas vermelha *Solieria filiformis* reduz hipernocicepção mecânica na articulação temporomandibular de ratos durante a artrite induzida por zymosan.

As disfunções temporomandibulares (DTM) envolvem a articulação temporomandibular (ATM) estão frequentemente associadas à inflamação e hiperalgesia secundária, alodinia, dor referida e artrite. Este estudo teve como objetivo investigar o efeito do polissacarídeo sulfatado derivado de algas vermelha *Solieria filiformis* (FI e FII) no modelo de artrite induzida por zymosan (Zy) na articulação temporomandibular de ratos. FI e FII foram extraídas por digestão enzimática, seguido de cromatografia por troca iónica (DEAE-celulose). Foram utilizados ratos Wistar machos (200-220 g) (CEPA 80/10). Os animais (n = 6) foram tratados com FI e FII (0,03, 0,3 ou 3 mg / kg; SC) 30 min. Antes da indução de artrite. Os ratos foram anestesiados e

receberam uma injeção intra-articular (i.art.) de zymosan (2 mg/40 mL) ou soro fisiológico (sham) na ATM esquerda. Hipernocicepção mecânica na ATM foi avaliada pela medição do limiar de intensidade de força necessária aplicado na região da ATM até que seja observado um reflexo de retirada do animal. Os valores basais foram anotados antes das administrações intraarticulares (i.art.) de zimosan. Após 6h, os ratos foram sacrificados sob anestesia. Os tecidos superficiais foram dissecados, a cavidade da ATM foi lavada para coletar o líquido sinovial (contagem de células total e mieloperoxidase (MPO) e do ensaio do tecido proveniente da ATM foram excisados para histologia).

O pré-tratamento com FI e FII em doses baixas inibiu ($p<0,05$) a resposta nociceptiva de ratos em comparação com grupo do zimosan. A administração de zimosan resultou em um aumento significativo no número de leucócitos (14310 ± 3210) no fluido sinovial em relação ao grupo sham (75 ± 21). FI e FII (0,03, 0,3 ou 3 mg/kg) não reduziu ($p>0,05$) o acumulo de neutrófilos, como demonstrado pela atividade de MPO. Fluxo intenso ($p>0,05$) de células inflamatórias foi observada na membrana sinovial e nos tecidos periarticulares, além da espessura na membrana sinovial nos grupos tratados com FI e FII. Outros estudos têm relatado que polissacarídeos sulfatados derivado de algas demostrou efeitos antinociceptivo, mas não foi reduzida de forma significativa nos processos inflamatórios induzidos por carragenina em ratos ou dextrano. Assim, estes dados sugerem que esses polissacarideos sulfatados podem ser uma ferramenta para estudar os mecanismos anti-nociceptivos.

Referência:

Santos AO, Araújo IWF, Santos RS, Abreu SC, Val DR, Pereira KMA, Brito GAC, Cristino Filho G, Pinto VPT, Clemente-Napimoga JT, Bezerra MM, Chaves HV, Benevides NMB (05-032). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

8. IFN-γ induz indoleamina (2,3)-dioxigenase (IDO) na medula espinal que contribui para a gênese da dor neuropática.

A produção espinal de interferon-γ (IFN-γ) na medula espinal tem sido relacionada com a gênese da dor neuropática. Embora, a participação desta citocina na dor neuropática ainda não esteja totalmente descrita. Alguns dados mostram que IFN-γ aumenta a expressão e atividade da enzima indoleamina (2,3)-dioxigenase (IDO) em vários tecidos. A IDO catalisa a conversão da serotonina (5-HT) ou triptofano em metabólitos biologicamente ativos. Assim, essa enzima pode participar de um dos mecanismos responsáveis pela desregulação da via descendente inibitória, já que limita a síntese de serotonina. O ácido quinolínico, produzido pela vida da IDO, participa da gênese da dor neuropática através do aumento da atividade do receptor NMDA. O presente estudo avaliou se o aumento na expressão de IDO na medula espinal, durante a dor neuropática, é um mecanismo dependente de IFN-γ.

Os experimentos foram realizados em camundongos macho C57BL/6 (WT), deficientes para IFN-γ (IFN-γ-/-) e deficientes para IDO (IDO-/-). A dor neuropática foi induzia pelo modelo de *spared nerve injury* (SNI). O limiar mecânico foi avaliado por aplicação de filamentos de von Frey na pata posterior

direita. IFN-γ foi administrado por via intratecal (i.t) em diferentes doses. Animais foram tratados com inibidor da IDO, D, L-1 metiltriptofano (D,L 1-met) por via i.t (15µg/site) ou por via oral (3mg/animal) ou com MK801 (antagonista do receptor NMDA - 10 nM). A expressão gênica de IDO e IFN-γ foram determinadas por RT-PCR. A expressão proteica de IDO foi realizada por *western blotting*, e a localização foi avaliada na medula espinal por imunofluorescência. Todos os ensaios foram realizados nos segmentos L3-L5 da medula espinal.

Primeiramente, foi mostrado que houve aumento na expressão de IFN-γ na medula espinal durante o curso da dor neuropática. Funcionalmente, animais IFN-γ-/- desenvolveram menos alodinia mecânica, quando comparados com animais WT, o que foi associado a uma redução na expressão de IDO1 (RNAm e proteína) na medula espinal após SNI. Corroborando, injeção intratecal de IFN-γ induz alodinia mecânica de forma dose e tempo dependente. O efeito nociceptivo desencadeado pelo IFN-γ foi associado com aumento na expressão de IDO1 (RNAm e proteina), mas não com marcadores de ativação de células da glia. Além disso, a nocicepção induzida por IFN-γ, foi reduzida após tratamento sistêmico e local com inibidor da IDO1. Finalmente, observou-se que a IDO1 é co-expressa nas mesmas células que expressam NeuN.

O presente estudo indica que a ativação neuro-imune, na medula espinal, através de um mecanismo dependente de IFN-γ, desempenha um papel crítico na gênese da dor neuropática. Além disso, o IFN-γ contribui para a dor neuropática através da indução da expressão de IDO1, que por sua vez aumenta a atividade do receptor NMDA.

Referência:

Fonseca, M. D. M, Santana, D. A. R, Souza, G. R, Cunha, F. Q, Cunha, T. M (05-043). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

9. TNF-α participa da hipernocicepção e da inflamação induzida por cristais de urato em camundongos.

A gota é uma doença com episódios agudos recorrentes de inflamação nas articulações e dor secundária devido ao depósito de cristais de urato monossódico (MSU) na cavidade articular. Os mecanismos precisos da inflamação gotosa permanecem pouco conhecidos e vários mediadores podem participar desta doença das articulações. Entre eles o TNF-α desempenha um importante papel na artrite gotosa. De fato, tem se observado que o tratamento com anti-TNF-α é eficaz em pacientes com gota. O presente trabalho realizado por pesquisadores da UFMG observou que a produção de TNF-α estava aumentada após a administração intra-articular de MSU. Ainda, animais nocaute para a citocina e o receptor (TNF-α-/- e TNFR1/R2-/-) apresentaram reduzida migração de neutrófilos para cavidade articular, bem como nas concentrações de IL-1β e CXCL1 no tecido periarticular e diminuição da hipernocicepção mecânica quando comparado aos animais controle. Além disso, o tratamento farmacológico com inibidores de TNF-α também reduziram os neutrófilos, a produção de IL-1β e CXCL1 e a hipernocicepção articular. Assim, através da utilização de ferramentas genéticas e farmacológicas, o presente estudo

contribuiu para o melhor entendimento do papel do TNF-α na fisiopatologia da gota. Este conhecimento pode ser útil para o desenvolvimento de nossas ferramentas terapêuticas, especialmente para o tratamento da gota refratária aos medicamentos convencionais.

Referência:

Bastos LFS, Oliveira THC, Amaral FA, Dias ACF, Oliveira VLS, Tavares LD, Costa VV, Galvão I, Soriani FM, Sachs D, Ryffel B, Souza DG, Teixeira MM (05.014). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

10. Investigação do papel dos receptores Toll-like 9 (TLR9) no desenvolvimento e manutenção da dor crônica inflamatória e neuropática.

Apesar dos avanços no tratamento farmacológico da dor, os mecanismos envolvidos na indução e manutenção do processo doloroso crônico são pouco compreendidos. Trabalhos anteriores demonstram um papel crucial dos receptores de reconhecimento padrão (PRR) na ativação das células gliais na medula espinal, contribuindo para indução e manutenção da dor neuropática. Entre os PRRs, os receptores TLR9 reconhecem e são ativados por dinucleotídeos CpG não-metilados (CpG-DNA), um PAMP presente em bactérias e vírus, bem como em DNA mitocondrial, um DAMP mitocondrial liberado durante processos de lesão celular. Entretanto, não existem evidências que TLR9 pode estar envolvido na gênese da dor crônica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o papel de TLR9 na gênese da dor crônica inflamatória e neuropática, bem como os mecanismos envolvidos.

Inicialmente, foi demonstrado que a alodinia mecânica induzida por CFA foi reduzida em animais deficientes para TLR9 comparado com animais selvagens. Entretanto, camundongos deficientes para TLR9 apresentaram redução da alodinia no modelo de dor neuropática (SNI) na fase de indução, mas não na fase de manutenção. Com intuito de investigar os mecanismos envolvidos na ativação de TLR9 na gênese da dor crônica, camundongos selvagens tratados com ODN-CpG apresentaram diminuição do limiar nociceptivo mecânico comparado com o grupo controle (veículo). Além disso, a hipersensibilidade nociceptiva mecânica em camundongos selvagens não foi observada em animais TLR9-/-, MyD88-/-, IL1R-/-, IL-6-/- e TNFR1/2-/-. O pré-tratamento de animais selvagens com minociclina e fluorocitrato demonstrou pouco efeito em inibir a hipersensibilidade nociceptiva mecânica induzida por ODN-CpG. Não obstante, houve aumento da expressão gênica de IL-1β, IL-6 e TNF-α na medula espinal após administração de ODN-CpG.

Finalmente, esses dados sugerem que a ativação espinal da via de sinalização TLR9/MyD88 esta envolvida na cascata de eventos que culmina em condições de dor crônica (inflamatória e neuropática). Além disso, a sinalização TLR9/MyD88 medeia a dor crônica através de mecanismos que dependem da subsequente produção de IL-1β, IL-6 e TNFα. Além disso, esses mecanismos podem representar uma nova abordagem para o desenvolvimento de novas drogas analgésicas para o controle da dor crônica.

Referência:

Ferreira DW, Fonseca MDM, Santa-Cecília FV, Cunha FQ, Cunha TM. (05-042). 46º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - Fortaleza, 21 a 24 de Outubro de 2014.

O Projeto DOL

Conheça a equipe que compõe o Projeto DOL

O projeto DOL – Dor On Line tem a finalidade de divulgar informações sobre o tema DOR, de maneira a incentivar o interesse e facilitar o entendimento de notícias e artigos mais atuais sobre o assunto. Em sua nova fase visa como público-alvo três segmentos: 1) estudantes e pesquisadores; 2) clínicos e especialistas e 3) público em geral, procurando utilizar uma linguagem acessível aos diferentes tipos de leitores.

O conteúdo do Portal DOL é preparado pelos membros da Equipe DOL, composta principalmente por pesquisadores e estudantes da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo interessados em DOR, e é atualizado mensalmente. O projeto é veiculado de duas maneiras:

- Boletim mensal (nosso alerta), enviado gratuitamente por e-mail para interessados e membros de Sociedades Científicas e afins;

- Portal DOL, website no qual o visitante encontra integralmente todos os tópicos discutidos no mês ou em edições anteriores. Além disso, o leitor pode visitar as diversas seções, onde encontrará artigos e informações direcionadas tanto ao público leigo quanto especializado, links para Sociedades Científicas e afins, informações sobre Congressos e reuniões sobre dor, ou, ainda, participar do nosso fórum, dando opiniões ou participando das discussões levantadas pelo público, ou, ainda, questionando nossas posições científicas comentadas em nossos Editoriais ou alertas.

Expediente

Editor-chefe

- **Sérgio Henrique Ferreira**

- Médico, Professor Titular Aposentado do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP*
- Principal área de interesse: Mediadores periféricos da dor inflamatória e controle da dor inflamatória e neuropática
- E-mail: shferrei@fmrp.usp.br

Editor Sênior

- **Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento**

- Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas, Mestre e Doutor em Ciências, Professor Adjunto de Química na FCE-UNB

- Principal área de interesse: Métodos espectroscópicos, química-quântica, desenvolvimento racional de fármacos, dor
- E-mail: pbarboni@usp.br

Editores Científicos

- **Sabrina Francesca de Souza Lisboa**

- Mestre e Doutora em Farmacologia pela FMRP-USP. Pós-doutorada com ênfase em Neuroimunopsicofarmacologia pela FMRP/USP. Atualmente desenvolve pós-doutorado na Universidade de Ohio, em Columbus - EUA.
- Principal área de interesse: Neuropsicofarmacologia
- E-mail: sa_lisboa@hotmail.com

- **Ieda Regina dos Santos**

- Bióloga do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor inflamatória
- E-mail: irschivo@hotmail.com

Desenvolvimento e Programação (Web Designer)

- **José Waldik Ramon**

- Cientista da Computação, Mestre Lato Sensu em Sistemas de Informação, Técnico para Assuntos Financeiros do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP

- Principal área de interesse: Programação, desenvolvimento de softwares e análise de sistemas
- E-mail: waldik@fmrp.usp.br

Assessoria Clínica

- **Serguey Malaquias de Almeida**

- Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Ceará (1994), residência médica em Neurocirurgia pelo Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo (2000) e fellowship em Terapia Antálgica e Cirurgia Funcional pelo Hospital A. C. Camargo (2010). Doutorando em Clínica Cirúrgica pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, atua profissionalmente como médico neurocirurgião, com ênfase no tratamento neurocirúrgico da dor e dos transtornos do movimento.
- E-mail: serguey@usp.br

- **Alexandre Hashimoto Pereira Lopes**

- Odontólogo, doutorando do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor e inflamação
- E-mail: alexlopes@usp.br

- **Andressa Daiane de Carvalho Zaparolli**

- Bióloga, Doutora em Ciências Médicas, Pós-doutoranda do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor inflamatória
- E-mail: adc@usp.br

- **Andreza Urba de Quadros**

  - Farmacêutica, doutoranda do Laboratório de Dor do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP
  - Principal área de interesse: Dor
  - E-mail: andrezaurba@gmail.com

- **Anne Karoline Schreiber**

  - Bióloga
  - Principal área de interesse: Dor neuropática, dor neuropática diabética
  - E-mail: anne-bio@hotmail.com

- **Cássia Regina da Silva**

  - Doutora em Bioquímica Toxicológica pela UFMS-RS, Pós-doutoranda do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
  - Principal área de interesse: Neurociências e Farmacologia
  - E-mail: cassiaufsm@gmail.com

- **David Wilson Ferreira**

  - Farmacêutico Generalista, doutorando do Laboratório de Dor do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP
  - Principal área de interesse: Dor e inflamação
  - E-mail: davidferreira_2005@hotmail.com

- **Equipe de extensão da Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília (FCE – UnB)**

- Adriele Alves Santos
- Aleff Gabriel Santos Santana
- Amanda de Araujo Fonseca
- Ana Carolina Alves M. de Moura
- Anne Pâmela Moreira
- Douglas Cardoso de Sousa
- Gleidson Tavares Lima - Desenvolvedor do livro em formato digital.
- Guilherme Guimarães da Silva
- Guilherme Henrique Alves de Lima
- José de Alsimir Gomes Júnior
- Isabel Carolina de Sousa Alves
- Isabel Rosa de Araujo
- Joseílson Silva Ribeiro
- Lusiane da Conceição Gomes Lima
- Marcos Vinicius Pereira Freire
- Marcus Alisson Araujo da Cunha Filho
- Maria Célia L. Rigonatto
- Mirelle Falcão Barreto
- Sammya Rodrigues dos Santos

- Sarah Lima Carneiro de Sousa
- Thatiane Sandielen Lima Soares

- **Flávia Viana Santa-Cecília**

- Farmacêutica Bioquímica, doutoranda do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor crônica
- E-mail: flascecilia@hotmail.com

- **Janetti Nogueira de Francischi**

- Professora Titular do Departamento de Farmacologia do ICB-UFMG
- Principal área de interesse: Farmacologia da Inflamação e da Dor
- E-mail: janettif@icb.ufmg.br

- **Jozi Godoy Figueiredo**

- Pós-doutoranda do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor e inflamação
- E-mail: jozigodoy@gmail.com

- **Larissa Garcia Pinto**

- Farmacêutica, Doutora em Farmacologia, Pós doutoranda da FCFRP-USP
- Principal área de interesse: Dor inflamatória
- E-mail: larissagp@usp.br

- **Mani Indiana Funez**

  - Professora Adjunta na área de Enfermagem e Farmacologia da Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília
  - Principal área de interesse: Dor e analgesia
  - E-mail: mani@unb.br

- **Miriam das Dores Mendes Fonseca**

  - Farmacêutica Generalista, doutoranda do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP
  - Principal área de interesse: Dor neuropática
  - E-mail: miriamfarmacia@yahoo.com.br

- **Rafael Poloni**

  - Farmacêutico da Secretaria Municipal de Saúde de Manaus-AM e Docente de Farmacologia e Patologia da Faculdade Metropolitana de Manaus-AM
  - Principal área de interesse: Dor
  - E-mail: rafpoloni@gmail.com

- **Rangel Leal Silva**

  - Farmacêutico Clínico-Industrial, mestrando do Laboratório de Dor e Inflamação do Depto. de Farmacologia
  - Principal área de interesse: Inflamação e Dor Inflamatória
  - E-mail: rangel.leal@usp.br

- **Renato Leonardo de Freitas**

- Biólogo, Pós-doutorando do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Neurobiologia da Dor e das Emoções
- E-mail: defreitas.rl@gmail.com

- **Wiliam Alves do Prado**

- Médico, Professor Titular Aposentado do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP
- Principal área de interesse: Dor
- E-mail: wadprado@fmrp.usp.br

Observações

O boletim mensal é enviado com a complacência da legislação sobre o Correio Eletrônico, Seção 301, Parágrafo (a) (2) (c) Decreto S 1618, Título Terceiro, aprovado pelo 105º Congresso Base das Normativas Internacionais sobre o SPAM. Não pode, portanto, ser considerado SPAM, pois se o usuário deseja ser excluído de nossa lista, basta devolver o e-mail solicitando sua exclusão;

As informações contidas neste website e em nosso boletim mensal não substituem o aconselhamento médico. Sempre procure seu médico antes de iniciar qualquer tratamento ou quando tiver qualquer dúvida acerca de uma condição clínica. Nenhuma das informações disponibilizadas por este serviço tem a finalidade da realização de diagnósticos ou orientação de tratamentos.

Capa: "Seashore of Fortaleza (3)" by Governo Federal Brasileiro - http://copa2014.gov.br/galeria/. Licensed under CC BY-SA 3.0 via Commons -

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Seashore_of_Fortaleza_(3).jpg#/media/File:Seashore_of_Fortaleza_(3).jpg

---

* Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo